тарной анемии поросят-сосунов.

Таким образом, рекомендуем добавлять в корм поросятам ферропептид из расчета 1 мл/кг массы тела в течение 40 дней.

Резюме: В статье представлены результаты изучения эффективности ферропептида для повышения продуктивности и профилактики алиментарной анемии поросят.

SUMMARY
Research results about efficiency of the ferropeptid to improve productivity and for prevention of hypoferric anemia of piglets are presented in the paper.

Keywords: ferropeptid, piglets, anemia, ferrum.

Литература

1. Антипов В.А. Новые отечественные ветеринарные препараты // Материалы координационного совещания «Итоги и перспективы научных исследований по проблемам патологии и разработке средств и методов терапии и профилактики», ВНИВИПФИТ. – Воронеж, 1995. – С. 22-24.

2. Дворецкий Л.И. Железодефицитные анемии. –М.: Ньюдиа-мед.,1988. –36 с.

3. Дорожкин В.И. Результаты исследований биологической активности метионата меди // Материалы научной конференции, посвященные 50-летию Краснодарской НИВС «Состояние и перспективы развития научных исследований по профилактике и лечению болезней сельскохозяйственных животных и птиц» Краснодар, 1996. – С. 91-92.

4. Самохин В.Т. Гипомикроэлементозы и здоровье животных / В кн.: Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных /7 Материалы Международного координационного совещания.- Воронеж.,- 1997,- С. 12-17.

5. Янченко В.В., Чиков А.Е., Осепчук Д.В. Рационы с пробиотиком для молодняка свиней, отстающего в росте. – Краснодар. – Ветеринария Кубани, № 6, 2010. – с. 8-9.

6. Furugoiri K. Plasma iron and total iron - bindung capacity in pigtets in anaemis and iron administration. -Anim. Sci, 1972, 34, 3, 421-426.

7. Hoorens J., Thoonen H., Rosiers G.- Anemie by verkels. Tijdschrift voor Diergeneeskunde,1969,94, 24, 1580-1596.

8. Peters T.- Zum EinfluB zusätzlicher Eisengaben an Mutter Sauen ante partum als Anämieprophylaxe bei Saugferkeln. Zuchtungskunde, 1971, 45 N 3-4, 245-248.

Контактная информации об авторах для переписки
Могилева А.Н. (аспирант ГНУ ВНИИВСГЭ, г. Москва)e-mail: alexandra.mogileva@gmail.com.

УДК 619: 616.9: 636.4

Балбуцкая А.А., Скворцов В.Н., Войтенко А.В., Дмитренко О.А.
(Белгородский филиал ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н. Ф. Гамалеи)

ВЫДЕЛЕНИЕ СТАФИЛОКОККОВ STAPHYLOCOCCUS INTERMEDIUS ГРУППЫ ОТ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Ключевые слова: Staphylococcus intermedius, Staphylococcus pseudintermedius, биологические свойства, факторы патогенности, биохимические тесты

Значение инфекций, вызванных грамположительными микроорганизмами, возрастает во всем мире. Ведущее место среди возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний, несомненно, занимают стафилококки. Гнойно-воспалительные заболевания относятся к числу наиболее распространенных. Способностью вызывать гнойные и серозно-гнойные воспаления у человека и животных обладают многие патогенные и условно-патогенные бактерии, но 70-80% всех острых и подострых нагно-

ений вызывают кокки.

В ветеринарной медицине особое значение в патологии собак имеют стафилококки Staphylococcus intermedius группы (SIG), которые еще недостаточно изучены.

Staphylococcus pseudintermedius впервые был описан в 2005 году, как новый коагулазоположительный вид стафилококка, вызывающий патологии у животных. Однако о первом случае бактериальной инфекции у человека сообщалось в 2006 году, это свидетельствует о том, что изучение стафилококков специфичных для животных может также иметь и медицинское значение. Данный стафилококк был выделен в отдельный вид из близкородственных ему видов Staphylococcus intermedius и Staphylococcus delphini методом ДНК-ДНК гибридизации. Эти три вида были объединены в S. intermedius группу (SIG), так как дифференцировать их с помощью фенотипических методов очень сложно (Devriese Luc A., 2005).

S. pseudintermedius признан основным возбудителем пиодермы у собак, а также других инфекционных заболеваний, таких как раневые инфекции, инфекции урогенитального тракта и отиты наружного уха. Также описаны случаи инфекционных заболеваний у людей и других животных, вызванных данным возбудителем. Учитывая, схожесть между инфекциями, вызываемыми S. pseudintermedius и S. aureus у собак и людей, знания о видовой специфичности S. pseudintermedius и патогенезе инфекционного процесса будут иметь значение в области ветеринарной медицины и здравоохранения.

Staphylococcus delphini впервые выделен от дельфинов в 1988 году при гнойных поражениях кожи (Varaldo P. et. al., 1988). Данный возбудитель чаще всего изолируют от домашних и диких голубей, лошадей и норок (Sasaki T. et al., 2007).

Другие коагулазоположительные стафилококки также являются причиной возникновения патологий у животных. В последние годы в ветеринарии и медицине возросла клиническая значимость Staphylococcus schleiferi subsp. coagulans, который по фенотипическим признакам наиболее сходен со S. intermedius, чем с другими стафилококками. В рутинной лабораторной практике их отличают по продукции ацетоина и ферментативной активности по отношению к трегалозе. Исследователи достаточно часто выделяют S. schleiferi subsp. coagulans при отитах наружного уха собак (Yamashita K. et al., 2004, Igimi S., 1990).

Целью нашего исследования явилось изучение частоты распространения стафилококков группы S. intermedius (SIG) среди различных видов животных, изучение их морфологических и культурально-биохимических свойств, возможности видовой дифференциации SIG с помощью биохимических коммерческих тест-систем для идентификации, а также подтверждение полученных данных с помощью генотипических методов.

Материалы и методы

Образцы патологического материала были отобраны от 92 коров, 22 свиней, 91 собаки, 9 кошек и 7 кур с различными патологиями. Кроме того, пробы были отобраны от здоровых животных: 83 собак, 60 лошадей и 53 домашних голубей. Всего с марта 2008 года по май 2011 были отобраны 483 пробы. В качестве референтных штаммов использовались S. intermedius DSM 20373T, S. pseudintermedius LMG 22219T и S. delphini DSM 20771T.

От обследуемых животных исследовали слизь из ротовой, носовой и влагалищной полостей, соскобы с пораженных участков кожи, смывы с конъюнктивы глаз, мазки из ушных раковин, порцию мочи от животных, больных циститом, содержимое абсцессов. От животных, предположительно больных маститом, отбирали молоко.

Посев исследуемого материала производили дробно на ЭСА (элективный солевой агар) или ЖСА (желточно-солевой агар) в чашках Петри по классической методике и инкубировали в течение 24 часов при температуре 37˚С.

Стафилококки были идентифицированы на основании характеристики колоний, окраски по Граму и морфологии, каталазной реакции и пигментации колоний. При определении видовой принадлежности использовали тест на плазмокоагулирующую активность, биохимические коммерческие микротестсистемы «STAPHYtest 24» (PLIVA-Lachema a.s., Чехия).

Для подтверждения идентификации коагулазоположительных стафилококков молекулярно-генетическим методом использовали мультиплексную ПЦР. Изолированные колонии микроорганизмов культивировали в бульоне BHI в течение 18 часов при температуре 37˚С. Экстракцию бактериальных ДНК производили с помощью метода, разработанного Дмитренко О. А. и соавт.(2010).

Для дифференциации коагулазоположительных стафилококков определяли наличие гена термонуклеазы (nuc) по методике, описанной Sasaki T. с соавт. (2010).

Результаты исследований

В результате проведенных исследований мы выяснили, что 105 изолированных культур стафилококков с помощью морфологических, биохимических тестов и теста на плазмокоагулирующую активность были идентифицированы, как S. intermedius. Большинство культур (100 или 95,2%) были выделены от собак, из них больных пиодермой – 28 штаммов, отитом – 25, конъюнктивитом – 5, циститом – 1, пиометрой – 5, из ран – 6, а также 30 штаммов были изолированы с десен и глотки здоровых собак. От кошек, больных циститом и отитом – 3 (2,8%) штамма, от здоровых голубей – 1 (1%), от лошадей без патологий – 1 (1%).

Все культуры хорошо росли на элективных (ЭСА, ЖСА) и обычных питательных средах при температуре 37°С в течение 18-24 часов. На кровяном агаре образовывали белые, круглые, слегка выпуклые, гладкие, блестящие колонии с ровными краями, от 5 до 6,5 мм в диаметре. На маннитол-солевом агаре образовывали более мелкие колонии, окруженные красно-фиолетовой зоной. При культивировании в жидких питательных средах микроорганизмы вызывали равномерное помутнение среды через 3-4 часа после посева, а затем наблюдалось выпадение легко встряхиваемого белого осадка, некоторые штаммы образовывали неоднородный налет на стенках пробирки.

Все изоляты имели сходные морфологические свойства. В мазках, окрашенных по Граму, выглядели, как грамположительные, неподвижные кокки, в мазках располагались беспорядочно, попарно, одиночно и в небольших скоплениях неправильной формы в виде гроздьев. Клетки не имели жгутиков, спор и капсул не образовывали.

Все выделенные культуры были каталазоположительными и оксидазонегативными. Изучение биохимической активности показало, что 100% штаммов ферментировали сахарозу, N-ацетил-глюкозамин, фосфатазу, галактозу, маннозу, лактозу, фруктозу с образованием молочной кислоты, и, напротив, 100 % штаммов не ферментировали орнитин, ксилозу и раффинозу. Все штаммы обладали β-галактозидазной активностью, образовывали пирролидониллариламидазу, уреазу и аргинин, не синтезировали β-глюкоронидазу. Реакция Фогес-Проскауэра (на продукцию ацетоина) была отрицательной, за исключением 2 штаммов. 98% изолятов ферментировали рибозу, 96,2% - трегалозу, 83,8% - мальтозу, 55,2% - маннитол, 2,8% - сорбитол, 2,8% - целлобиозу, 2,8% - арабинозу, 95,2% вызывали гидролиз эскулина, 8,6% изолятов обладали β-глюкозидазной активностью.

Все изолированные культуры были изучены на способность коагулировать ци-

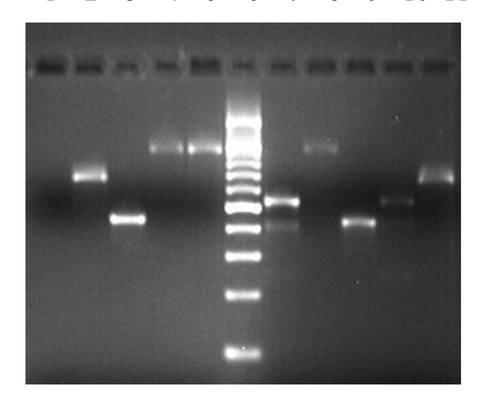


Рисунок 1. Ампликоны гена *nuk* у различных видов коагулазоположительных стафилококков в мультиплексной ПЦР: 1, вода (отрицательный контроль); 2, *S. delphini*; 3, *S. intermedius DSM20373*^{T}; 4, *S. pseudintermedius*; 5, *S. pseudintermedius LMG22219*^{T}; 6, Маркер молекулярной массы ДНК (bp); 7, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*; 8, *S. pseudintermedius*; 9, *S. intermedius*; 10, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*; 11, *S. delphini DSM 20771*^{T}.

тратную кроличью плазму в разведении 1:5. Результаты показали, что способными к коагуляции оказались 87,3% штаммов.

Согласно проведенным исследованиям, все изолированные нами культуры по морфологическим и культурально-биохимическим свойствам соответствовали виду S. intermedius. Для подтверждения результатов мы определили наличие гена термонуклеазы в мультиплексной ПЦР. Данный ген используют, как одну из ключевых характеристик при видовой дифференциации стафилококков.

С помощью мультиплексной ПЦР (рис.1) для идентификации коагулазопозитивных стафилококков удалось определить видовую принадлежность 104 штаммов, из них 98 (93,3%) культур были идентифицированы, как S. pseudintermedius, 4 (3,8%) – S. schleiferi subsp. coagulans, 2 (1,9%) - S. intermedius и 2 (1,9%) - S. delphini, 1 штамм идентифицировать не удалось.

Выводы

Сходство биохимических свойств S. pseudintermedius, S. intermedius и S. delphini приводит к ошибочной идентификации и дифференциации видов стафилококков SIG с помощью коммерческих систем для идентификации, в которых S. pseudintermedius даже не включен в базу данных. Ни одна из используемых в России коммерческих биохимических тест-систем не может достоверно идентифицировать стафилококки SIG. Поэтому точная идентификация вида должна подтверждаться молекулярными тестами.

Резюме: С 2008 по 2011 от различных видов животных и птиц были отобраны 483 пробы. Мы идентифицировали 105 изолятов с помощью биохимических тест-систем (Staphy test 24) как S. intermedius. Для подтверждения результатов биохимической идентификации использовали метод мультиплексной ПЦР. В результате 98 (93,3%) штаммов были идентифицированы, как S. pseudintermedius, 4 (3,8%) – S. schleiferi subsp. coagulans, 2 (1,9%) - S. intermedius и 2 (1,9%) - S. delphini, 1 штамм идентифицировать не удалось.

SUMMARY

483 samples were obtained in different animals and birds since 2008 to 2011 year. We identified 105 isolates as S. intermedius by biochemical systems (Staphy test 24). For confirmation of the biochemical identification all isolates were identified by Multiplex-PCR for coagulase positive staphylococcoci. As a result 98 strains were identified as S. pseudintermedius (93,3%), 4 (3,8%) – S. schleiferi subsp. coagulans, 2 (1,9%) - S. intermedius and 2 (1,9%) - S. delphini. 1 isolate was not identified.

Keywords: Staphylococcus intermedius, Staphylococcus pseudintermedius, biological properties, pathogen factors, biochemical tests

Литература

1. Devriese L. A., Vancanneyt M., Baele M., Vaneechoutte M., De Graef E., Snauwaert C., Cleenwerck I., Dawyndt P., Swings J., Decostere A., Haesebrouck F. Staphylococcus pseudintermedius sp. nov., a coagulase-positive species from animals. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2005. – 55. – P. 1569-1573.
2. Igimi S., Takahashi E. and Mitsuoka T. Staphylococcus schleiferi subsp. coagulans subsp. nov., isolated from the external auditory meatus of dogs with external ear otitis. // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1990. – 40. – P. 409 - 411.
3. Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K. Reclassification of phenotypically identified Staphylococcus intermedius srtains. // Journal of Clinical Microbiology. – 2007. – Vol. 45. - № 9. – P. 2770-2778.
4. Sasaki T., Tsubakishita S. T., Tanaka Y., Sakusabe A., Ohtsuka M., Hirotaki S., Kawakami T., Fukata T., Hiramatsu K. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococcoci. // Journal of Clinical Microbiology. – 2010. – Vol. 48. - №3. – P. 765-769.
5. Varaldo P.E., Kilpper-Baelz R., Biavasco F., Satta G. and Schleifer K. Staphylococcus delphini sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. // Int. J. of Syst. Bact. – 1988. – Vol. 38. – P. 436-439.
6. Yamashita K., Shimizu A., Kawano J., Uchida E., Haruna A., Igimi S. Isolation and characterization of Staphylococci from external auditory meatus of dogs with or without otitis externa with special reference to Staphylococcus schleiferi subsp. coagulans isolates. // Vet. Med. Sci. – 2005. – Vol. 67. - № 3. – P. 263-268.

Контактная информации об авторах для переписки

Балбуцкая Анна Александровна – научный сотрудник Белгородского филиала ВИЭВ. Адрес: Россия, 308002 г. Белгород, ул. Курская, 4 Тел. 8-4722-26-29-75. E-mail: veter@belnet.ru

Скворцов Владимир Николаевич – директор Белгородским филиала ВИЭВ. Адрес: Россия, 308002 г. Белгород, ул. Курская, 4 Тел. 8-4722-26-29-75. E-mail: veter@belnet.ru

Войтенко Андрей Владимирович – старший научный сотрудник Белгородского филиала ВИЭВ. Адрес: Россия, 308002 г. Белгород, ул. Курская, 4 Тел. 8-4722-26-29-75. E-mail:

veter@belnet.ru
Дмитренко Ольга Александровна - ФГБУ НИИ экспериментальной эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н. Ф. Гамалеи

УДК 616-093:619

Войтенко Л.Г., Нижельская Е.И., Щебетовская Т.Н., Лавренова А.А.
(Донской ГАУ)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ЦЕФАМЕТРИНА

Ключевые слова: микроорганизмы, эндометрит, цефаметрин, агар, бульон

Основной причиной воспалительных процессов в матке является условно-патогенная микрофлора (стрептококки, стафилококки, диплококки, кишечная и синегнойная палочки, протей, хламидии), которые усиливают свои патогенные свойства на фоне снижения естественной резистентности организма коров в послеродовой период (И.С. Коба, 2006, А.В. Воробьев с соавт., 2009).

Заболевания органов размножения являются огромным препятствием для развития животноводства и повышения продуктивности животных. Среди нихзначительное место занимают эндометриты, обуславливающие длительное бесплодие маточного поголовья, приводящее к большим экономическим потерям (А. Нежданов 2005), В.Я. Никитин 2009, Поскольку проблема послеродовых заболеваний сельскохозяйственных животных находится в центре внимания ученых и практикующих врачей, тенденция роста акушерско-гинекологических заболеваний требует постоянного совершенствования и внедрения новых, эффективных лечебно-профилактических препаратов.

На кафедре акушерства и хирургии разработан новый комплексный препарат цефаметрин, стойкий при хранении в обычных условиях в защищенном от света месте. Не горюч, не пожароопасен. Плотность препарата составляет 1,23 г/мл, pH – 7,9 – 8,1. Активнодействующим компонентом является цефотаксим – антибиотик цефалоспоринового ряда 3 поколения.

Целью наших исследований было изучение фармакологического действия цефаметрина. Для достижения этой цели была поставлена задача - определить антимикробные свойства цефаметрина методом серийных разбавлений в жидкой питательной среде и методом диффузии в агар .

При определении бактерицидной активности цефаметрина в жидкой питательной среде делали его дробные (кратные) разведения в МПБ. В качестве тест культур использовали суточные полевые микроорганизмы выделенные от коров, больных острым послеродовым эндометритом (Streptococcus epidermis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus vulgaris).

В бульон, содержащий препарат в убывающей концентрации (разведение 1: 128) вносили тест-культуры.

Микробная нагрузка составляла 1 млрд. микробных тел в 1 мл. пробирки с питательной средой инкубировали в течении 18-20 часов при температуре 37 градусов С. Активность препарата определяли по ингибиции интенсивности роста и гибели микроорганизмов.

Цефаметрин показал выраженное бактерицидное и бактериостатическое

действием по отношению ко всем испытуемым культурам микроорганизмов.

В разведении 1:32 по отношению к культуре Str.epidermis и E. Coli,

в разведении 1:16 по отношению к культуре St. Aureus и Pr. Vulgaris.

Для определения противомикробного действия цефаметрина в три чашки Петри на МПА засевали культуры микроорганизмов, выделенные из маточного экссу-